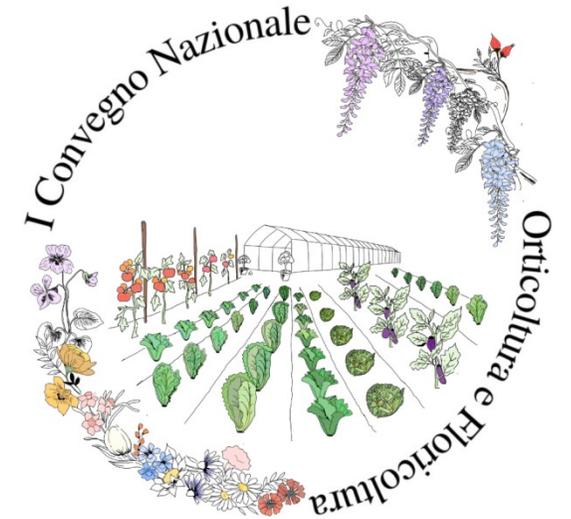


# Incapsulamento di propaguli unipolari *vitro*-derivati per la gestione di due specie di interesse agrario e ornamentale

Maurizio Micheli\*, Simona Lucia Facchin, Francesco Prosperi, Giorgio Sisani, Luca Regni

maurizio.micheli@unipg.it\* - autore di riferimento

*Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Perugia,  
Borgo XX Giugno 74, 06121 Perugia, Italia*



*Pisa*

*14-16 Giugno, 2022*

Con il patrocinio di



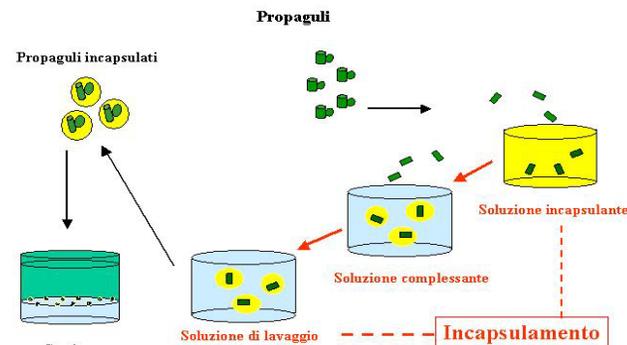
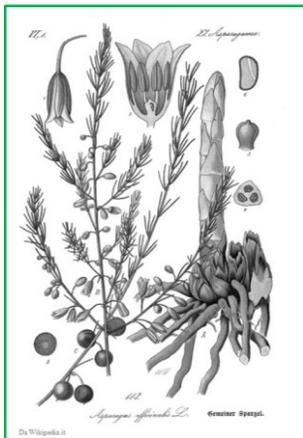
Società di Ortoflorofrutticoltura Italiana

## Introduzione e obiettivo del lavoro

Una moderna gestione dei prodotti vivaistici è sempre più caratterizzata dal ricorso a tecnologie che consentano di ridurre i costi di gestione e semplificare la filiera, senza limitarne la capacità produttiva. Per quanto concerne la propagazione, alcune tecniche di coltura *in vitro* (micropropagazione) sono impiegate abitualmente per moltiplicare numerose specie mantenendo standard elevati in termini di qualità genetica e sanitaria. Accanto a ciò, altre soluzioni tecnologiche allo studio da alcuni anni sembrano poter essere utilizzate, tra cui l'*incapsulamento* che ad oggi, è già ampiamente impiegato per altri scopi, come la conservazione del germoplasma. Nell'ambito di un progetto di salvaguardia di risorse genetiche locali dell'Italia centrale, è stato valutato l'effetto della matrice incapsulante di alginato di calcio sulla risposta vegetativa di espianti uninodali rigenerati *in vitro* di *Asparagus officinalis* (L.) e *Cotinus coccygria* (Scop.) (Fig. 1), specie molto differenti per habitus, coltivazione e uso commerciale.

## Materiali e metodi

In entrambe le specie, da germogli proliferati *in vitro* (Fig. 2) sono state prelevate porzioni uninodali (*microtalee*) di circa 3-4 mm di lunghezza, prive di foglie, ma dotate di gemme ascellari. In condizioni di asepsi, i propaguli sono stati sottoposti ad incapsulamento in una matrice di alginato di calcio seguendo il protocollo descritto da Micheli e Standardi (2015) (Fig. 3). L'endosperma artificiale era costituito dalla componente nutritiva impiegata durante la proliferazione (Fig. 4), a metà concentrazione, addizionata di 50 g l<sup>-1</sup> di saccarosio. I propaguli incapsulati (*capsule*) sono stati 'seminati' sul terreno di proliferazione, ma privo di fitoregolatori, subito o dopo 30 giorni di frigoconservazione (4°C) al buio. Le colture sono state mantenute per 30 giorni in camera di crescita, con fotoperiodo di 16 ore, intensità pari a 40 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e temperatura di 21±2°C, prima di effettuare la valutazione finale.



COMPONENTE	SPECIE	
	SCOTANO	ASPARAGO
MACROELEMENTI (mg l <sup>-1</sup> )		
KNO <sub>3</sub>	---	1900,00
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	400,00	1650,00
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	370,00	370,00
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	170,00	170,00
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	96,00	440,00
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	556,00	---
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	990,00	---
MICROELEMENTI		
FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	27,80	27,80
Na <sub>2</sub> EDTA	37,50	37,50
MnSO <sub>4</sub> · H <sub>2</sub> O	22,30	16,00
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,20	6,20
ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	8,60	8,60
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0,25	2,50
CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	0,25	0,25
CoCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	---	0,25
KI	---	0,83
ORGANICI		
Misoinositolo	100,00	100,00
Glicina	2,00	---
Tiamina-HCl	0,10	0,10
Piridossina-HCl	0,50	0,50
Acido nicotinico	0,50	0,50
FITOREGOLATORI		
Benzilaminopurina (BAP)	0,20	---
Acido gibberellico (GA <sub>3</sub> )	0,02	---
Acido indolacetico (IAA)	---	1,50
Kinetina	---	---
ALTRI (g l <sup>-1</sup> )		
Saccarosio	30,00	30,00
Agar	7,00	7,00
pH	5,8	5,6

Fig. 1 – Le specie oggetto di studio.

Fig. 2 – Germogli di scotano (a sinistra) e asparago (a destra).

Fig. 3 – Schema del protocollo di incapsulamento.

Fig. 4 – Composizione dei substrati di proliferazione.



## Risultati

I parametri rilevati al termine degli esperimenti sono riportati in tabella 1.

### Scotano

Le microtalee di scotano non sembrano essere state condizionate dall'incapsulamento, con vitalità più che soddisfacente (Fig. 5). Per quanto riguarda la ripresa, non sono state evidenziate significative differenze tra le capsule conservate e quelli seminate subito dopo l'incapsulamento, anche se in entrambi i casi le performance sono un pò limitate con valori compresi tra 40,0 e 46,7% (Fig. 5). Dalle capsule non conservate si è sviluppato un numero di germogli mediamente superiore, anche se le microtalee frigoconservate hanno prodotto germogli di lunghezza superiore (8,5 rispetto a 5,3 mm) (Tab. 2; Fig. 6). Infine, non è stata rilevata alcuna produzione di masse callose alla base dei germogli neoformati.

PARAMETRO	DESCRIZIONE	UNITA' DI MISURA
<i>Vitalità</i>	Propaguli che si mostravano verdi	(%)
<i>Ripresa</i>	Propaguli che hanno prodotto almeno 1 germoglio di lunghezza maggiore o uguale a 3 mm oppure callo, denotando attività vegetativa	(n°)
<i>Germogli prodotti</i>	Germogli di almeno 3 mm di lunghezza prodotti da ciascuna microtalea	(n°)
<i>Lunghezza dei germogli prodotti</i>	Lunghezza media dei germogli prodotti	(mm)
<i>Callo</i>	Propaguli che hanno sviluppato una massa callosa nella parte basale	(%)

Tab. 1 – Parametri valutati al termine degli esperimenti.

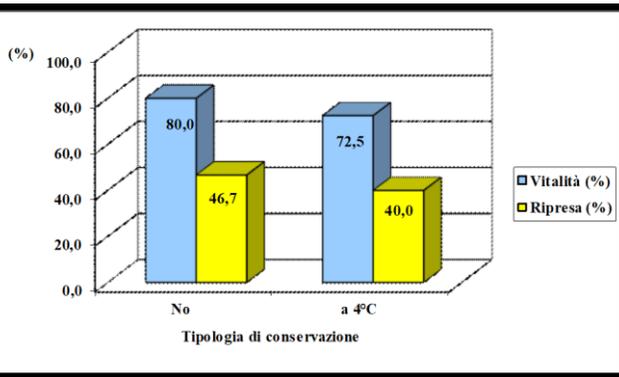


Fig. 6 – Ripresa di capsula frigoconservata di scotano.

Conservazione	Germogli/microtalea	
	(n°)	(mm)
No	1,2 a	5,3 b
4°C	1,0 a	8,5 a

I valori di ciascuna colonna seguiti da una lettera diversa sono diversi, secondo il test di Duncan ( $\alpha < 0,05$ ).

Tab. 2 – Qualità del germogliamento delle capsule di scotano.

Conservazione	Vitalità (%)	Ripresa (%)	Germogli/microtalea	
			(n°)	(mm)
No	100,0 a	100,0 a	2,5 a	26,3 a
4°C	75,0 b	75,5 b	1,5 b	5,0 b

I valori di ciascuna colonna seguiti da una lettera diversa sono diversi, secondo il test di Duncan ( $\alpha < 0,05$ ).

Tab. 3 – Qualità del germogliamento delle capsule di asparago.

### Asparago

In questa specie l'incapsulamento non ha condizionato la ripresa delle microtalee seminate subito, che, sia in termini di vitalità che di ripresa, hanno espresso valori decisamente superiori rispetto ai propaguli conservati a 4°C (100,0%). Questo comportamento è stato riscontrato anche per il germogliamento, in particolare in termini di lunghezza dei germogli (26,3 mm) (Tab. 3; Fig. 7).

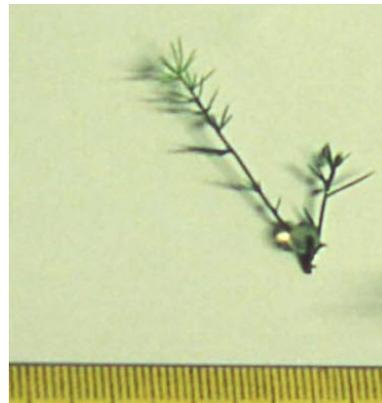


Fig. 7 – Ripresa di capsula di asparago.

## Conclusioni

È stata dimostrata l'efficacia del protocollo di incapsulamento utilizzato per le due specie oggetto di studio, che non ha condizionato l'attività vegetativa delle microtalee. Ulteriori studi si necessitano per ottimizzare la composizione dell'endosperma artificiale e aumentare la durata del periodo di frigoconservazione.